

BESTIMMUNG DER FLUORESZENZAUSBEUTE UND DES FLUORESZENZSPEKTRUMS MITTELS ERREGUNGSLICHTQUELLEN MIT KONTINUIERLICHEM SPEKTRUM

Von I. KETSKEMÉTY, J. DOMBI, R. HORVAI, J. HEVESI und L. KOZMA

Institut für Experimentalphysik der Universität Szeged

(Eingegangen am 15. März 1961)

Es werden Bestimmungsmethoden für die Quantenausbeute und das Fluoreszenzspektrum von fluoreszierenden Lösungen mittels Erregungslichtquellen mit kontinuierlichem bzw. stark verbreiterte Linien enthaltendem Spektrum beschrieben. Es wird gezeigt, daß auch im Falle nicht streng monochromatischer Erregung verhältnismäßig einfache Auswertungsformeln verwendbar sind. Mit den beschriebenen Methoden wurden Untersuchungen an Lösungen von Fluorescein, Rhodamin B und Trypaflavin durchgeführt. Die erhaltenen Ausbeutewerte und die Fluoreszenzspektren werden tabellarisch mitgeteilt.

§ 1. Bei der Untersuchung einiger Gesetze der molekularen Lumineszenz, wie z. B. bei der Kontrolle des sogenannten WAWIŁOWSchen Gesetzes [1] und der Abhängigkeit des Fluoreszenzspektrums von der Erregungswellenlänge [2], tritt die Notwendigkeit der Verwendung von Erregungslichtquellen mit kontinuierlichem Spektrum auf. Wenn wir bei Untersuchungen mit solchen Lichtquellen die störende Wirkung der Sekundärfluoreszenz durch die Verminderung der Schichtdicke [3] der bestrahlten Lösung beseitigen, oder auf ein leicht in Rechnung zu ziehendes Maß reduzieren wollen, so wird bei Anwendung eines photoelektrischen Spektrophotometers von üblicher Empfindlichkeit [4] die spektrale Bandbreite des Erregungslichtes im allgemeinen 5–10 $m\mu$ nicht unterschreiten dürfen. (Bei Erregung durch die verbreiterten Linien der oft angewandten Quecksilberhöchstdrucklampen wird ebenfalls mit einer spektralen Bandbreite von 3–6 $m\mu$ zu rechnen sein [5].) Die größere Bandbreite des Erregungslichtes wird im allgemeinen die Kompliziertheit der zur Auswertung der unmittelbaren Meßergebnisse anzuwendenden Formeln mit sich bringen [6], aber — wie es auch unsere experimentellen Untersuchungen unterstützen — können solche Schichtdicken gewählt werden, bei denen a) die Fluoreszenzintensität noch gut meßbar ist, b) die störende Wirkung der Sekundärfluoreszenz bloß einen Fehler von einigen Prozenten verursacht und gleichzeitig c) die zur Auswertung nötigen mathematischen Zusammenhänge bzw. numerischen Berechnungen selbst bei Reihenuntersuchungen keine besondere Schwierigkeiten bereiten.

§ 2. Zur Bestimmung der absoluten Quantenausbeute η einer fluoreszierenden Lösung oder des Quantenspektrums $f_q(\lambda)$ der Fluoreszenz mittels einer Erregungslichtquelle mit kontinuierlichem Spektrum ist es zweckmäßig, das folgende Verfahren bzw. die folgende Rechnungsmethode anzuwenden.

Zuerst bilden wir auf den Eintrittsspalt eines photoelektrischen Spektrophotometers eine Magnesiumoxydfläche ab und bestrahlen wir diese mit einem Erregungslichtbündel von 5–10 m μ Bandbreite des durch ein Interferenzfilter oder einen Monochromator durchgelassenen Lichtes der Lampe, und zwar so, daß das Erregungslichtbündel mit der Kollimatorachse des Spektrophotometers nahezu parallel sei, d. h. mit letzterer einen Winkel $\vartheta < 20^\circ$ einschließe. Bezeichnen wir in diesem Falle mit $I_e(\lambda)$ die Intensität des Photostromes bei Einstellung des Apparates auf eine Wellenlänge λ , und mit $I_T(\lambda)$ bei Belichtung der Magnesiumoxydfläche durch ein aus einer Lichtquelle der Farbtemperatur T gewonnenes Lichtbündel, dessen Quantenverteilung $q(\lambda)$ bekannt ist; sei $q(\lambda)/I_T(\lambda) \equiv Q(\lambda)$. Setzen wir dann an Stelle der Magnesiumoxydfläche eine dünne, planparallele Schicht der zu untersuchenden Lösung, die eine Dicke l besitzt, und bestrahlen wir diese durch das Erregungslichtbündel unter dem erwähnten Winkel ϑ . (Die Vorderfläche der die Lösung enthaltenden Küvette werde senkrecht zur Kollimatorachse des Spektrophotometers eingestellt.) Die Intensität des durch das Fluoreszenzlicht hervorgerufenen Photostromes bei der Einstellung des Spektrophotometers auf die Wellenlänge λ sei mit $I_f(\lambda)$ bezeichnet.

Für den Zusammenhang der Quantenausbeute und der Photoströme $I_e(\lambda)$, bzw. $I_f(\lambda)$ kann eine mit guter Annäherung gültige Formel erhalten werden, bei deren Herleitung die Ausgangsgleichungen der für die Ausbeutemessung ausgearbeiteten WAWILOWSCHEN Methode [7], sowie der wohlbekannte fluoreszenzphotometrische Zusammenhang für breitbandige Erregung [6] benützt wurden. Nach unseren einfachen, aber langwierigen Berechnungen, auf die wir hier nicht eingehen wollen (s. den Anhang), ergab sich, daß für die auf das Erregungsband bezogene mittlere Quantenausbeute η_0 , ohne Korrektion für die Sekundärfluoreszenz, die Gleichung

$$\eta_0 = \frac{I_f(\lambda_0)}{I_{e \max}} \quad (1a)$$

$$= \frac{4n^2rQ(\lambda_0) \cos(\vartheta/n)}{\rho f_q(\lambda_0) \left\{ \frac{1 - e^{-k(\lambda_0)l}}{k(\lambda_0)} \bar{k} - \frac{1}{\cos(\vartheta/n)} \left(\frac{1}{2} - \frac{1}{3} k(\lambda_0)l \right) \bar{k}^2 l^2 + \frac{1}{\cos(\vartheta/n)} \left(\frac{1}{6} - \frac{1}{8} k(\lambda_0)l \right) \bar{k}^3 l^3 \right\}}$$

mit guter Annäherung gültig ist, wenn das Produkt aus dem Maximum des Absorptionskoeffizienten $k(\lambda)$ und der Schichtdicke l nicht größer als $\frac{1}{2}$ ist. In (1a) bedeutet $f_q(\lambda_0)$ den Wert der normierten Quantenverteilungsfunktion der Fluoreszenz bei einer, der Maximumstelle des Emissionsspektrums naheliegenden Wellenlänge λ_0 , n den Brechungsindex der Lösung, r ($\approx 0,98$) den Reflexionskoeffizienten des Magnesiumoxyds; der dem Werte 0,9 nahestehende Faktor ρ bezieht sich auf die Reflexionsverluste; die mit einem Querstrich bezeichneten Größen in (1a)

$$\bar{k}^m = \int_0^\infty \frac{I_e(\lambda)}{I_{e \max}} Q(\lambda) [k(\lambda)]^m d\lambda \quad (m = 1, 2, 3) \quad (2)$$

lassen sich graphisch oder numerisch leicht bestimmen. Die Formel (1a) bzw. die mit ihr verbundene Ausbeutebestimmungsmethode erscheint deshalb als besonders vorteilhaft, weil bei Reihenmessungen, die mit Veränderung der Konzentration

und der Schichtdicke verknüpft sind — z. B. bei der Untersuchung der Konzentrationslöschung — die Integrale \bar{k}^m nur einmal zu bestimmen sind.

Ist die Intensität der Fluoreszenz bzw. die Empfindlichkeit des benützten Spektrophotometers groß genug, so ist es zweckmäßig, den Wert der erwähnten Größe $k_{\max} \cdot l$ durch Wahl von l derart zu verringern, daß die vorige kleiner als etwa 0,1 sei. In diesem Falle vereinfacht sich Gl. (1a) wesentlich, es gilt nämlich, mit einem Fehler nicht größer als 0,5%, die Gleichung

$$\eta_0 = \frac{I_f(\lambda_0)}{I_{e \max}} \cdot \frac{4n^2 r Q(\lambda_0) \cos(\vartheta/n)}{\rho f_q(\lambda_0) \left\{ \bar{k}l - \frac{1}{2 \cos(\vartheta/n)} \bar{k}^2 l^2 \right\}} \quad (1b)$$

Bei der Herleitung dieser Näherungsformel aus (1a) wurde vorausgesetzt, daß der Absorptionskoeffizient bei der Wellenlänge λ_0 nur etwa 1/10 des k_{\max} beträgt. In den meisten Fällen kann man λ_0 tatsächlich so wählen, daß diese Bedingung in der Nähe der Maximumstelle des Fluoreszenzspektrums erfüllt sei.

Ist die Bedingung $k_{\max} \cdot l < 0,1$ erfüllt, so ist die zur Bestimmung des Fluoreszenzspektrums zu verwendende Auswertungsformel ebenfalls sehr einfach. Aus der im Anhang angegebenen Ausgangsgleichung (5) erhalten wir nämlich durch eine leichte Rechnung die Beziehung

$$f_q(\lambda) = \text{const. } I_f(\lambda) Q(\lambda) \frac{\bar{k} - \frac{1}{2} \bar{k}^2 l}{\left(1 - \frac{k(\lambda)l}{2}\right) \bar{k} - \frac{1}{2} \bar{k}^2 l} \quad (3)$$

Wenn weiters noch $\bar{k}^2 l / \bar{k} < 0,2$ ist (s. Anhang), so besteht innerhalb der erwähnten Fehlergrenze die noch einfachere Näherungsformel

$$f_q(\lambda) = \text{const. } I_f(\lambda) Q(\lambda) \frac{1}{1 - \frac{k(\lambda)l}{2}} \quad (4)$$

Die Gültigkeit der auf das Fluoreszenzspektrum bezüglichen beiden letzten Gleichungen wird unter den gegebenen Bedingungen durch die Sekundärfluoreszenz nicht beeinflusst [3]. Wenn dagegen das Intensitätsverhältnis der sekundären und primären Fluoreszenzen nicht mehr zu vernachlässigen ist, so ist die wahre Ausbeute aus den durch (1a) und (1b) gegebenen Näherungswerten nach der in [5] mitgeteilten Methode zu berechnen.

§ 3. Es wurden unter den in § 2 angegebenen Versuchsbedingungen — teilweise auch zur Kontrolle der Verwendbarkeit der beschriebenen Methode — Messungen an wäßrigen Lösungen des Fluoresceins bzw. an Äthylalkohol-Lösungen des Rhodamin B und des Trypaflavins durchgeführt. Als Spektrophotometer wurde ein Apparat des Typs „Optica Milano CF4“ verwendet.

Bei der Bestimmung der absoluten Quantenausbeute diente zur Herstellung des Erregungslichtes eine Xenonlampe XBO 501 und ein Doppelmonochromator. Durch das so gewonnene monochromatische Licht wurde ein Flächenstück von $0,7 \text{ cm} \times 1,8 \text{ cm}$ an der Vorderfläche der Küvette bestrahlt und etwa $0,2 \text{ cm} \times 1,0 \text{ cm}$ die-

ses Flächenstückes auf den Eintrittspalt des Spektrophotometers abgebildet. Für die Bestimmung der Empfindlichkeitsfunktion $Q(\lambda)$ des Spektrophotometers wurde eine von der Firma OSRAM auf bekannte Farbtemperatur eingestellte Lampe verwendet.

Tabelle I

Nr.	Konzentration Mol/l	l cm	$k_{\max} \cdot l$	η_0
1	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-2}$	0,111	0,44
2	"	$1,25 \cdot 10^{-1}$	0,278	0,43
3	"	$2,5 \cdot 10^{-1}$	0,555	0,42
4	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,055	0,46
5	"	$5 \cdot 10^{-2}$	0,277	0,43
6	"	$1 \cdot 10^{-1}$	0,556	0,42

Nach der Aufnahme der Absorptions- und Emissionsspektren der untersuchten Lösungen wurde der Verlauf der Funktion $I_e(\lambda)$ für die zur Erregung der einzelnen Lösungen benützten Banden bestimmt, und zwar so, daß die Maximumstellen dieser Funktionen mit Hilfe des Doppelmonochromators in die Nähe der Wellenlänge des Absorptionsmaximums der einzelnen Lösungen eingestellt waren. Die Maximumstelle von $I_e(\lambda)$ lag im Falle des Trypaflavins, des Fluoresceins und des Rhodamin B der Reihe nach bei 466, 492 und 557 m μ ; die für die Messung der Fluoreszenzintensitäten — in der Nähe der Fluoreszenzmaxima — gewählten Wellenlängen waren 490, 512 bzw. 572 m μ .

Tabelle II

Lösung	Konzentration in Mol/l	Erregungswellenlänge in m μ	η
Fluorescein im Wasser mit 3% NaOH..	$5 \cdot 10^{-5}$	≈ 492	0,93
Trypaflavin im C ₂ H ₅ OH mit $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l HCl	$2 \cdot 10^{-5}$ und $5 \cdot 10^{-5}$	≈ 466	0,43
Rhodamin B im C ₂ H ₅ OH mit $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l HCl.....	$4 \cdot 10^{-5}$	≈ 557	0,53

In Tabelle I sind die charakteristischen Versuchsdaten unserer Untersuchungen am Trypaflavin sowie die für diesen Stoff erhaltenen Ausbeutewerte als Beispiel dargestellt. Zur Auswertung der Meßdaten wurde in den Fällen 1 und 4 (s. Tabelle I) die sehr einfache Formel (1b), in den übrigen Fällen die Formel (1a) angewendet. Es ist zu bemerken, daß nach den numerischen Berechnungen die Glieder des durch Reihenentwicklung erhaltenen Ausdrucks im Nenner von (1a) im allgemeinen sehr rasch abnehmen, so stehen z. B. im Falle der 5. Zeile der Tabelle I die drei, \bar{k} , \bar{k}^2 , \bar{k}^3 enthaltenden Glieder des Nenners im Verhältnis 100:12,02:0,99 zueinander.

Im Falle des Trypaflavins übertraf nach unseren Rechnungen das Intensitätsverhältnis des sekundären und der primären Fluoreszenz in keinem der in Tabelle I angeführten Fälle den Wert 0,03, was besagt, daß bei der angewendeten Methode der von der sekundären Fluoreszenz herrührende Fehler von max. 3% innerhalb der Fehlergrenzen der Messung und Auswertung lag.

Aus den Ergebnissen unserer Messungen zur Bestimmung der absoluten Quantenausbeute ergaben sich als wahrscheinlichste Werte für die Lösungen der drei Stoffe die in Tabelle II mitgeteilten Angaben.

Die Sekundärfluoreszenz verursachte allein bei Rhodamin B eine merkliche, etwa 6% betragende scheinbare Erhöhung der Quantenausbeute, welche rechnerisch in Betracht gezogen wurde. Die Abweichung der Quantenausbeute 0,93 des Fluoresceins von dem bei Erregung einer Lösung derselben Konzentration mit der Wellenlänge 436 m μ erhaltenen Werte 0,87 [5] weist auf die Abhängigkeit der absoluten Quantenausbeute von der Erregungswellenlänge *auch in STOKESSchem Gebiete* hin, worauf auch aus den im Gange befindlichen Untersuchungen der Autoren zu schließen ist.

Tabelle III/A

Fluorescein, $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, im Wasser mit 3% NaOH. Erregungswellenlänge: 436 m μ

λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_{q \max}}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_{q \max}}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_{q \max}}$
480	1,5	508	95,0	540	48,2
482	2,1	510	97,2	545	41,7
484	3,3	512	98,9	550	36,9
486	5,6	513	100,0	555	32,0
488	8,4	514	99,1	560	28,1
490	12,5	516	97,8	565	23,5
492	17,6	518	93,7	570	19,7
494	23,1	520	89,0	575	16,8
496	32,3	522	83,7	580	13,5
498	44,2	524	78,8	585	11,4
500	56,3	526	73,6	590	8,3
502	68,4	528	68,2	595	7,6
504	78,7	530	62,2	600	6,5
506	87,8	535	55,0		

Bei der Bestimmung der *Fluoreszenzspektren* auf Grund von (4) ist die Aufnahme der spektralen Verteilung des Erregungslichtes — wie auch aus der Formel ersichtlich — nicht nötig, was übrigens im Falle der zur Erregung sehr geeigneten verbreiterten Spektrallinien der Quecksilberhöchstdrucklampen ziemlich schwierig ist. Diese Schwierigkeit ist zwar auch dadurch auszuschalten, daß durch Verringerung der Spaltbreite des zur Filtrierung des Erregungslichtes dienenden Monochromators das Erregungsbündel in dem Maße monochromatisch gemacht wird, daß zur Bestimmung des Fluoreszenzspektrums die wohlbekannte Korrektionsformel [6] für monochromatische Erregung benützt werden kann. In solchen Fällen ist aber die Schichtdicke infolge der geringen Erregungsintensität stark zu erhöhen, was das Auftreten der spektralen Störwirkung der Sekundärfluoreszenz nach sich zieht. Die auf (4) beruhende Bestimmungsmethode der Fluoreszenzspektren er-

scheint also bei Verwendung nicht nur von Glüh- und Xenonlampen, sondern auch von Quecksilberhöchstdrucklampen vorteilhaft.

Bei der genauen Bestimmung der Fluoreszenzspektren des Fluoresceins, Trypaflavins und des Rhodamin B wurde — mit Rücksicht auf das oben Gesagte —

Tabelle III/B

Trypaflavin, $3 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, im C_2H_5OH mit $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l HCl.
Erregungswellenlänge: 436 m μ

λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$
450	0,8	484	90,4	530	48,3
452	1,0	486	94,2	535	44,5
454	1,5	488	98,6	540	39,0
456	2,3	490	100,0	545	34,1
458	2,8	492	99,6	550	29,3
460	5,5	494	99,2	555	25,5
462	8,4	496	96,8	560	21,3
464	12,3	498	94,9	565	19,2
466	17,3	500	91,8	570	15,9
468	24,1	502	88,4	575	13,8
470	31,8	504	84,9	580	11,8
472	41,0	506	82,7	585	9,7
474	50,4	508	79,7	590	8,5
476	60,5	510	76,2	595	7,8
478	70,0	515	68,0	600	6,3
480	77,7	520	62,0	605	5,2
482	85,0	525	55,4	610	4,9

Tabelle III/C

Rhodamin B, $2 \cdot 10^{-5}$ Mol/l, C_2H_5OH mit $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l HCl. Erregungswellenlänge: 546 m μ

λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$	λ	$100 \frac{f_q(\lambda)}{f_q \max}$
520	0,6	568	83,6	600	53,7
525	1,7	570	90,4	602	47,6
530	3,3	572	95,6	604	44,9
532	4,9	574	98,6	606	42,0
534	6,0	576	100,0	608	39,7
536	9,1	578	99,9	610	37,7
538	13,7	580	98,4	615	35,6
540	18,3	582	95,4	620	33,0
Erregungsband		584	90,8	625	27,9
554	23,9	586	84,3	630	21,0
556	31,7	588	79,2	635	19,2
558	40,3	590	73,3	640	17,5
560	50,3	592	66,6	645	15,5
562	59,4	594	63,6	650	13,2
564	68,0	596	62,1		
566	76,8	598	56,4		

die Bedingung $k_{\max} \cdot l \leq 0,1$ eingehalten. Zur Aufnahme der Spektren wurde die im Vorhergehenden schon beschriebene Versuchseinrichtung benützt; die Herstellung des Erregungslichtes erfolgte aber mittels des mit einer Quecksilberhöchstdrucklampe HBO 200 kombinierten Doppelmonochromators, den wir schon bei den Ausbeutemessungen verwendet hatten. Außerdem wurden im Falle des Fluoresceins auch Messungen durchgeführt, bei denen zur Herstellung des Erregungslichtes eine von der stabilisierten Stromquelle des Spektrophotometers gespeiste Glühlampe von 50 W und ein Interferenzfilter SIF 460 diente.

Die Werte der Verteilungsfunktion $f_q(\lambda)$ der Fluoreszenz sind in den Tabellen IIIA, IIIB und IIIC zusammengefaßt.

Anhang

a) Bei der Herleitung der in der Arbeit angegebenen Näherungsformeln wurde davon ausgegangen, daß unter den vorausgesetzten Versuchsbedingungen die spektrale Fluoreszenzleuchtdichte $B(\lambda')$, im Quantenstrom ausgedrückt,

$$B(\lambda') = \frac{\eta_0 f_q(\lambda') Q}{4 \pi n^2} \int_0^\infty E(\lambda) \frac{k(\lambda)/\cos(\vartheta/n)}{k(\lambda') + k(\lambda)/\cos(\vartheta/n)} \left[1 - e^{-\left[\frac{k(\lambda)}{\cos(\vartheta/n)} + k(\lambda') \right] l} \right] d\lambda \quad (5)$$

beträgt. Die hier auftretende, bisher nicht definierte Größe $E(\lambda)$ bedeutet die spektrale Quantenstromdichte des Erregungslichtes an der Vorderfläche der bestrahlten Küvette. (Bezüglich dieser Gl. s. S. 38–40 von [6].) In Gl. (5) steht nicht η , sondern η_0 , da hier die Sekundärfluoreszenz nicht berücksichtigt ist. Die Wellenlänge des Fluoreszenzlichtes ist zur Unterscheidung von der Integrationsveränderlichen λ mit λ' bezeichnet. Die im § 2 definierten Photoströme $I_e(\lambda)$ bzw. $I_f(\lambda)$ des Photoelektronenvervielfachers (bzw. Photozelle) des Spektrophotometers hängen mit $B(\lambda)$ bzw. mit $E(\lambda)$ durch die Gleichungen

$$B(\lambda) = C I_f(\lambda) Q(\lambda) \quad (6a)$$

bzw.

$$E(\lambda) = C \frac{\pi}{r} I_e(\lambda) Q(\lambda) \quad (6b)$$

zusammen. C ist eine von der optischen Anordnung und von den Daten des Spektrophotometers abhängige, jedoch von λ unabhängige Konstante. Gl. (6b) beruht auf dem LAMBERTSchen Streuungsgesetz [7]. Die Gleichungen (1a) und (1b) wurden aus (5) derart hergeleitet, daß nach Reihenentwicklung des Exponentialausdruckes — auf Grund entsprechender Abschätzung — Vernachlässigungen vorgenommen wurden, wobei die beschriebene Wahl von λ_0 eine wesentliche Rolle spielte.

b) Gl. (3) läßt sich aus (1a) dadurch ableiten, daß man in dem Nenner der rechten Seite von (1a) das \bar{k}^3 enthaltende Glied vernachlässigt, λ_0 durch die beliebige Wellenlänge λ ersetzt, im Koeffizienten von \bar{k}^2 den Ausdruck $k(\lambda)l$ vernachlässigt und den Koeffizienten von \bar{k} durch $(1 - k(\lambda)l/2)$ annähert. In Gl. (3) sind die von λ unabhängigen Faktoren in einem Faktor der Form $\text{const.} [\bar{k} - \bar{k}^2 l/2 \cos(\vartheta/n)]$ zusammengezogen; so nähert sich der Bruch in der rechten Seite von (3) für $k(\lambda) \rightarrow 0$ dem Werte Eins.

c) Um (4) statt (3) anwenden zu können, ist es — wie es aus einer einfachen Rechnung hervorgeht — nur notwendig, daß

$$\frac{\bar{k}^2 l}{2 \bar{k}} < 0,1 \quad (7)$$

sei. Durch Anwendung eines elementaren Mittelwertsatzes der Integralrechnung läßt sich beweisen,

daß die Ungleichung (7) besteht, wenn für das Verhältnis des Minimal- bzw. Maximalwertes k'_{\min} bzw. k'_{\max} des Absorptionskoeffizienten $k(\lambda)$ im Spektralgebiete der Erregungsbande

$$k'_{\min}/k'_{\max} > 5k_{\max} \cdot l \quad (8)$$

gilt. Aus (8) ist es ersichtlich, daß im Falle einer nicht zu breiten Erregungsbande leicht eine Schichtdicke l zu finden ist, bei welcher die äußerst einfache Korrektionsformel (4) anwendbar ist.

* * *

Die Verfasser sprechen auch an dieser Stelle Herrn Prof. A. BUDÓ, dem Leiter des Institutes für sein anhaltendes Interesse und seine wertvollen Ratschläge ihren aufrichtigen Dank aus.

Literatur

- [1] Wawilow, S. I.: Z. Physik **42**, 311 (1927).
- [2] Ketskeméty, I., J. Dombi, R. Horvai: Acta Phys. Hung. **12**, 263 (1960).
- [3] Budó, A., I. Ketskeméty: J. Chem. Phys. **25**, 595 (1956); Acta Phys. Hung. **7**, 207 (1957); Budó, A., J. Dombi, R. Horvai: Acta Phys. et Chem. Szeged **3**, 3 (1957); Dombi, J., R. Horvai: Ibid. **2**, 9 (1956).
- [4] Ketskeméty, I.: Acta Phys. Hung. **10**, 429 (1959).
- [5] Budó, A., J. Dombi, L. Szöllösy: Acta Phys. et Chem. Szeged **2**, 18 (1956).
- [6] Förster, Th.: Fluoreszenz organischer Verbindungen (Wandenhoeck & Ruprecht, Göttingen, 1951).
- [7] Wawilow, S. I.: Z. Physik **22**, 266 (1924); Лёвшин, В. Л.: Фотолюминесценция жидких и твёрдых веществ (Москва—Ленинград, 1951).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫХОДА И СПЕКТРА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ ИСТОЧНИКОВ СВЕТА С РАСШИРЕННЫМИ ЛИНИЯМИ

И. Кечкемети, И. Домби, Р. Хорваи, И. Хевеши и Л. Козма

В работе описываются экспериментальные методы определения абсолютного выхода и спектра флуоресценции растворов при применении возбуждающих источников света, обладающих сплошным спектром или спектром с расширенными линиями. Было показано, что относительно простые формулы могут быть применены для расчета выхода и спектра флуоресценции даже при не строго монохроматическом возбуждении. Авторы сделали измерения описанными методами в случае растворов флуоресценна, родамина Б и трипафлавина. Приведены полученные данные для выхода и таблицы спектров флуоресценции.